

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
18. Juli 2002 (18.07.2002)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 02/055692 A2

(51) Internationale Patentklassifikation⁷: **C12N 15/11**,
A61K 31/713, C12N 15/88, A61P 35/00

91054 Erlangen (DE). SCHUPPAN, Detlef [DE/DE];
Baumzeit 2, 91088 Bubenreuth (DE).

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP02/00151

(74) Anwalt: GASSNER, Wolfgang; Nägelebachstrasse 49 a,
91052 Erlangen (DE).

(22) Internationales Anmelde datum:

9. Januar 2002 (09.01.2002)

(81) Bestimmungsstaaten (national): AE, AG, AL, AM, AT,
AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR,
CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE,
GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR,
KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK,
MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU,
SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG,
US, UZ, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:

101 00 586.5 9. Januar 2001 (09.01.2001) DE

(84) Bestimmungsstaaten (regional): ARIPO-Patent (GH,
GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM; ZW),
eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ,
TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK,
ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR),
OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW,
ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US): RIBOPHARMA AG [DE/DE]; Universitätsstrasse 30, 95447 Bayreuth (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): KREUTZER, Roland [DE/DE]; Universitätsstrasse 30, 95447 Bayreuth (DE). LIMMER, Stefan [DE/DE]; Universitätsstrasse 30, 95447 Bayreuth (DE). VORNLOCHER, Hans-Peter [DE/DE]; Universitätsstrasse 30, 95447 Bayreuth (DE). HADWIGER, Philipp [DE/DE]; Universitätsstrasse 30, 95447 Bayreuth (DE). GEICK, Anke [DE/DE]; Universitätsstrasse 30, 95447 Bayreuth (DE). OCKER, Matthias [DE/DE]; Beethovenstr. 15, 91052 Erlangen (DE). HEROLD, Christoph [DE/DE]; Spardofer Str. 40,

Veröffentlicht:

— ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

(54) Title: METHOD FOR INHIBITING THE EXPRESSION OF A TARGET GENE AND MEDICAMENT FOR TREATING A TUMOR DISEASE

(54) Bezeichnung: VERFAHREN ZUR HEMMUNG DER EXPRESSION EINES ZIELGENS UND MEDIKAMENT ZUR THERAPIE EINER TUMORERKRANKUNG

(57) Abstract: The invention relates to a method for inhibiting an expression of at least one target gene that impedes or prevents the apoptosis of a tumor cell, whereby at least one double-stranded ribonucleic acid (dsRNA) is introduced into the tumor cell whose strand S1 has a region, which is complementary to the target gene at least in areas and which is comprised of fewer than 25 consecutive nucleotides.

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Hemmung einer die Apoptose einer Tumorzelle hemmenden oder verhindern den Expression mindestens eines Zielgens, wobei mindestens eine doppelsträngige Ribonukleinsäure (dsRNA) in die Tumorzelle eingeführt wird, deren einer Strang S1 einen zum Zielgen zumindest abschnittsweise komplementären aus weniger als 25 aufeinanderfolgenden Nukleotiden bestehenden Bereich aufweist.

WO 02/055692 A2

BEST AVAILABLE COPY

sinn-Oligonukleotiden ein Wachstum von Tumoren um etwa 50 bis 60% verringert werden konnte. Dazu war eine Behandlung mit 20 mg Oligonukleotiden pro Kilogramm Körpergewicht und Tag erforderlich. Durch diese große Menge erforderlicher Oligonukleotide ist die Behandlung verhältnismäßig teuer. Darüber hinaus können die eingesetzten einzelsträngigen Oligonukleotide schnell im Serum abgebaut werden. Die hohe Oligonukleotidmenge ist erforderlich, weil ein Antisinn-Oligonukleotid letztendlich in einer Menge in Zielzellen eingebracht werden muß, die mindestens genauso groß ist wie die Menge der dort vorhandenen mRNA des Zielgens. Mit dem Verfahren wurde lediglich eine Verringerung des Wachstums, nicht jedoch eine Rückbildung der Tumore erreicht.

Aufgabe der vorliegenden Erfindung ist es, die Nachteile nach dem Stand der Technik zu beseitigen. Es soll insbesondere ein Verfahren und ein Medikament angegeben werden, mit dem die Vermehrung von Tumorzellen effektiv und kostengünstig gehemmt werden kann.

Diese Aufgabe wird durch die Merkmale der Ansprüche 1 und 13 gelöst. Vorteilhafte Ausgestaltungen ergeben sich aus den Ansprüche 2 bis 12 und 14 bis 26.

Nach Maßgabe der Erfindung ist ein Verfahren zur Hemmung einer die Apoptose einer Tumorzelle hemmenden oder verhindern den Expression mindestens eines Zielgens vorgesehen, wobei mindestens eine doppelsträngige Ribonukleinsäure (dsRNA) in die Tumorzelle eingeführt wird, deren einer Strang S1 einen zum Zielgen zumindest abschnittsweise komplementären, aus weniger als 25 aufeinanderfolgenden Nukleotiden bestehenden Bereich aufweist. Unter dem "Zielgen" wird der DNA-Strang der doppelsträngigen DNA in der Tumorzelle verstanden, welcher

Als besonders vorteilhaft hat es sich erwiesen, wenn zumindest ein Ende der dsRNA einen aus 1 bis 4, insbesondere 2 oder 3, Nukleotiden gebildeten einzelsträngigen Überhang aufweist. Eine solche dsRNA weist gegenüber einer dsRNA ohne einzelsträngige Überhänge an mindestens einem Ende eine bessere Wirksamkeit bei der Hemmung der Expression des Zielgens auf. Ein Ende ist dabei ein Bereich der dsRNA, in welchem ein 5'- und ein 3'-Strangende vorliegen. Eine nur aus dem Strang 10 S1 bestehende dsRNA weist demnach eine Schleifenstruktur und nur ein Ende auf. Eine aus dem Strang S1 und einem Strang S2 gebildete dsRNA weist zwei Enden auf. Ein Ende wird dabei jeweils von einem auf dem Strang S1 und einem auf dem Strang S2 liegenden Strangende gebildet.

15

Vorzugsweise befindet sich der einzelsträngige Überhang am 3'-Ende des Strangs S1. Diese Lokalisation des einzelsträngigen Überhangs führt zu einer weiteren Steigerung der Effizienz des Verfahrens. In einem Ausführungsbeispiel weist die 20 dsRNA nur an einem, insbesondere dem am 3'-Ende des Strangs S1 gelegenen, Ende einen einzelsträngigen Überhang auf. Das andere Ende ist bei einer zwei Enden aufweisenden dsRNA glatt, d.h. ohne Überhänge, ausgebildet. Eine solche dsRNA hat sich sowohl in verschiedenen Zellkulturmedien als auch in 25 Blutserum als besonders beständig erwiesen.

Der komplementäre Bereich der dsRNA kann 19 bis 24, vorzugsweise 21 bis 23, insbesondere 22, Nukleotide aufweisen. Eine dsRNA mit dieser Struktur ist besonders effizient in der Inhibition des Zielgens. Der Strang S1 der dsRNA kann weniger 30 als 30, vorzugsweise weniger als 25, besonders vorzugsweise 21 bis 24, Nukleotide aufweisen. Die Zahl dieser Nukleotide

Tumorzelle kann es sich um eine Pankreaskarzinomzelle handeln. Zum Einbringen der dsRNA in die Tumorzelle kann eine die dsRNA umschließende micellare Struktur, vorzugsweise ein Liposom, oder ein die dsRNA umschließendes Kapsid verwendet werden. Das Kapsid kann insbesondere ein virales natürliches Kapsid oder ein auf chemischem oder enzymatischem Weg hergestelltes künstliches Kapsid oder eine davon abgeleitete Struktur sein.

10 Weiterhin betrifft die Erfindung ein Medikament zur Therapie einer Tumorerkrankung, das mindestens eine doppelsträngige Ribonukleinsäure (dsRNA) zur Hemmung einer Expression mindestens eines Zielgens enthält, wobei ein Strang S1 der dsRNA einen zum Zielgen zumindest abschnittsweise komplementären aus weniger als 25 aufeinanderfolgenden Nukleotiden bestehenden Bereich aufweist. Das Zielgen ist dabei ein Gen, dessen Expression eine Apoptose von Tumorzellen hemmt oder verhindert. Das Medikament ist so zu dosieren, daß die Hemmung der Expression mindestens eines Zielgens erreicht werden kann.

15 20 Überraschenderweise hat sich gezeigt, daß ein solches Medikament dazu sehr niedrig dosiert eingesetzt werden kann. Eine Dosierung von 5 mg dsRNA pro Kilogramm Körpergewicht und Tag sind ausreichend, um in den Tumorzellen eine Hemmung oder vollständige Unterdrückung der Expression des Zielgens zu erreichen. Bei einer solch niedrigen Dosierung werden Nebenwirkungen weitgehend ausgeschlossen.

Vorzugsweise weist zumindest ein Ende der dsRNA einen aus 1 bis 4, insbesondere 2 oder 3, Nukleotiden gebildeten einzelsträngigen Überhang auf. Der einzelsträngige Überhang kann sich am 3'-Ende des Strangs S1 befinden. Besonders bevorzugt weist die dsRNA nur an einem, insbesondere dem am 3'-Ende des Strangs S1 gelegenen, Ende einen einzelsträngigen Überhang

zugsweise einem Liposom, oder einem Kapsid umschlossen vorliegen. Eine micellare Struktur oder ein Kapsid kann die Aufnahme der dsRNA in die Tumorzellen erleichtern. Das Medikament kann eine Zubereitung aufweisen, die zur Inhalation, 5 oralen Aufnahme oder Injektion, insbesondere zur intravenösen oder intraperitonealen Injektion oder zur Injektion direkt in ein Tumorgewebe, geeignet ist. Eine zur Inhalation oder Injektion geeignete Zubereitung kann im einfachsten Fall aus einem physiologisch verträglichen Puffer, insbesondere einer 10 phosphatgepufferten Salzlösung, und der dsRNA bestehen. Es hat sich nämlich überraschenderweise herausgestellt, daß eine lediglich in einem solchen Puffer gelöst dsRNA von den Tumorzellen aufgenommen wird und die Expression des Zielgens 15 hemmt, ohne daß die dsRNA dazu in ein besonderes Vehikel verpackt werden muß.

Nachfolgend werden anhand der Figuren Beispiele der Erfindung erläutert. Es zeigen:

20 Fig. 1 die prozentuale Apoptoserate von humanen Pankreas-
karzinomzellen YAP C 120 Stunden nach Transfektion
mit einer zu einer ersten Sequenz aus dem humanen
Bcl-2-Gen komplementären dsRNA 1,

25 Fig. 2 die prozentuale Apoptoserate der YAP C-Zellen 120
Stunden nach Transfektion mit einer zu einer zweiten
Sequenz aus dem humanen Bcl-2-Gen komplementären
dsRNA 2 und

30 Fig. 3 die prozentuale Apoptoserate von YAP C-Zellen 120
Stunden nach Transfektion mit einer zu einer Sequenz aus dem Noemycin-Resistenzgen komplementären
dsRNA 3.

Die Transfektionen wurden in einer 6-Well-Platte mit Oligofectamine (Fa. Invitrogen, Karlsruhe) durchgeführt. Pro Well wurden 250.000 Zellen ausgesetzt. Die Transfektion der doppelsträngigen Oligoribonukleotide wurde nach dem von Invitrogen für Oligofectamine empfohlenen Protokoll durchgeführt (Angaben beziehen sich auf 1 Well einer 6-Well-Platte):

10 μ l des doppelsträngigen Oligoribonukleotids (0,1 - 10 μ M) wurden mit 175 μ l Zellkulturmedium ohne Zusätze verdünnt. 10 μ l Oligofectamine wurden mit 12 μ l Zellkulturmedium ohne Zusätze verdünnt und 10 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Das so verdünnte Oligofectamine wurde zu den bereits verdünnten doppelsträngigen Oligoribonukleotiden gegeben, gemischt und 20 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. In dieser Zeit wurden die zu transfizierenden Zellen einmal mit Zellkulturmedium ohne Zusätze gewaschen und 800 μ l frisches Zellkulturmedium zugegeben. Danach wurden pro Well 200 μ l des beschriebenen Oligofectamine-dsRNA-Gemisches zugegeben, so daß das Endvolumen für die Transfektion 1000 μ l betrug. Hierdurch ergibt sich eine Endkonzentration der doppelsträngigen Oligoribonukleotide von 1-100 μ M. Der Transfektionsansatz wurde vier Stunden bei 37°C bebrütet. Danach wurden pro Well 500 μ l Zellkulturmedium mit 30% FKS zugegeben, so daß die Endkonzentration an FKS 10% betrug. Dieser Ansatz wurde für 120 Stunden bei 37°C inkubiert.

30 Nach der Inkubation wurden die Überstände gesammelt, die Zellen mit phosphatgepufferter Salzlösung (PBS) gewaschen, mittels Trypsin abgelöst und 10 Minuten mit 100 g zentrifugiert. Der Überstand wurde verworfen und das Pellet mit hypotoner Propidiumjodidlösung 30 Minuten bei 4°C im Dunkeln inkubiert. Die Analyse erfolgte durchflußzytometrisch in dem Fluores-

Patentansprüche

1. Verfahren zur Hemmung einer die Apoptose einer Tumorzelle hemmenden oder verhindernden Expression mindestens eines Zielgens, wobei mindestens eine doppelsträngige Ribonukleinsäure (dsRNA) in die Tumorzelle eingeführt wird, deren einer Strang S1 einen zum Zielgen zumindest abschnittsweise komplementären aus weniger als 25 aufeinanderfolgenden Nukleotiden bestehenden Bereich aufweist.
- 10 2. Verfahren nach Anspruch 1, wobei zumindest ein Ende der dsRNA einen aus 1 bis 4, insbesondere 2 oder 3, Nukleotiden gebildeten einzelsträngigen Überhang aufweist.
- 15 3. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei sich der einzelsträngige Überhang am 3'-Ende des Strangs S1 befindet.
4. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die dsRNA nur an einem, insbesondere dem am 3'-Ende des Strangs S1 gelegenen, Ende einen einzelsträngigen Überhang aufweist.
- 20 5. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei der komplementäre Bereich der dsRNA 19 bis 24, bevorzugt 21 bis 23, insbesondere 22, Nukleotide aufweist.
- 25 6. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei der Strang S1 weniger als 30, vorzugsweise weniger als 25, besonders vorzugsweise 21 bis 24, Nukleotide aufweist.
- 30 7. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei mindestens ein Ende der dsRNA modifiziert wird, um einem Abbau in der Tumorzelle oder einer Dissoziation entgegenzuwirken.

14. Medikament nach Anspruch 13, wobei zumindest ein Ende der dsRNA einen aus 1 bis 4, insbesondere 2 oder 3, Nukleotiden gebildeten einzelsträngigen Überhang aufweist.
- 5 15. Medikament nach Anspruch 13 oder 14, wobei sich der einzelsträngige Überhang am 3'-Ende des Strangs S1 befindet.
16. Medikament nach einem der Ansprüche 13 bis 15, wobei die dsRNA nur an einem, insbesondere dem am 3'-Ende des Strangs S1 gelegenen, Ende einen einzelsträngigen Überhang aufweist.
- 10 17. Medikament nach einem der Ansprüche 13 bis 16, wobei der komplementäre Bereich 19 bis 24, bevorzugt 21 bis 23, insbesondere 22, Nukleotide aufweist.
- 15 18. Medikament nach einem der Ansprüche 13 bis 17, wobei der Strang S1 weniger als 30, vorzugsweise weniger als 25, besonders vorzugsweise 21 bis 24, Nukleotide aufweist.
19. Medikament nach einem der Ansprüche 13 bis 18, wobei mindestens ein Ende der dsRNA modifiziert ist, um einem Abbau in den Tumorzellen oder einer Dissoziation entgegenzuwirken.
- 20 20. Medikament nach einem der Ansprüche 13 bis 19, wobei der durch komplementäre Nukleotidpaare bewirkte Zusammenhalt der dsRNA durch mindestens eine, vorzugsweise zwei, weitere chemische Verknüpfung/en erhöht ist.
- 25 21. Medikament nach einem der Ansprüche 13 bis 20, wobei das Zielgen mindestens ein Gen der Bcl-2-Familie, insbesondere Bcl-2, Bcl-w oder Bcl-xL, ist oder sowohl Bcl-2 als auch Bcl-xL Zielgene sind.

1/3

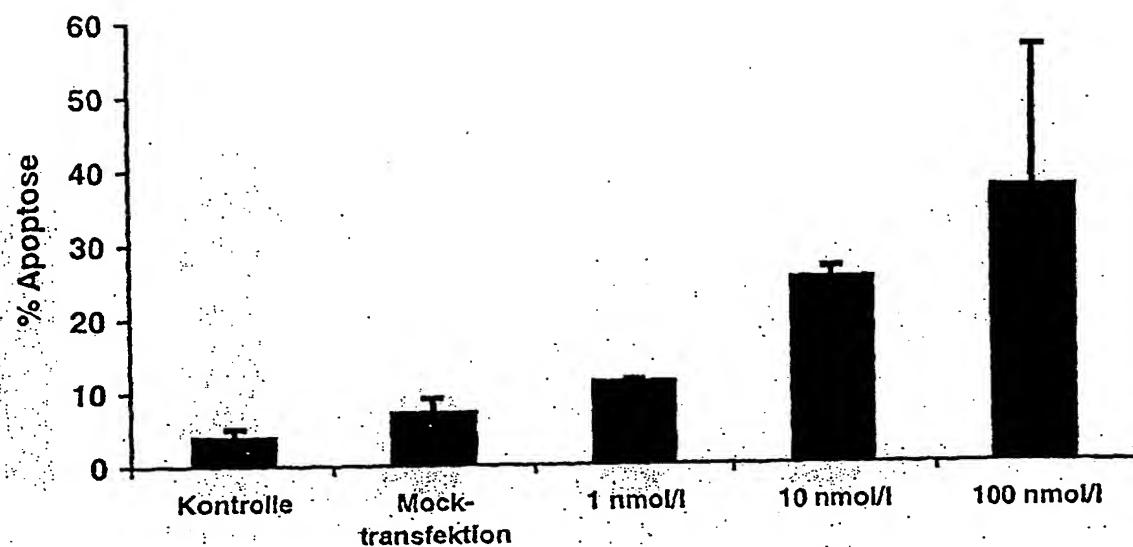


Fig. 1

3/3

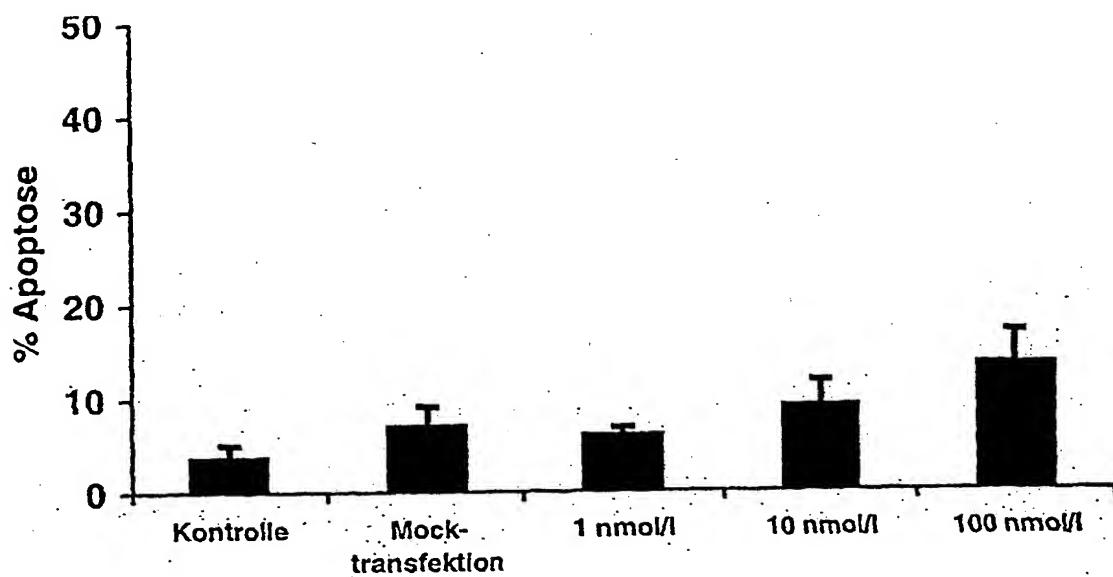


Fig. 3

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:
Antisinn-Strang einer zu einer Séquenz des humanen
Bcl-2-Gens komplementären dsRNA.

5

<400> 4

ggccguacag uuccacaaaag gcau

24

10

<210> 5

<211> 22

<212> RNA

<213> Künstliche Sequenz

15

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Sinn-Strang
einer zu einer Sequenz des Neomycin-Resistenzgens
komplementären dsRNA

20

<400> 5

caagggauag gaucguuucg ca

22

25

<210> 6

<211> 23

<212> RNA

<213> Künstliche Sequenz

30

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:
Antisinn-Strang einer zu einer Sequenz des
Neomycin-Resistenzgens komplementären dsRNA

35

<400> 6

gcgaaaacgau ccucauuccug ucu

23

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
18. Juli 2002 (18.07.2002)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 02/055692 A3

(51) Internationale Patentklassifikation⁷: C12N 15/11, A61K 31/713, C12N 15/88, A61P 35/00

(74) Anwalt: GASSNER, Wolfgang; Nägelsbachstrasse 49 a, 91052 Erlangen (DE).

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP02/00151

(81) Bestimmungsstaaten (national): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(22) Internationales Anmeldedatum: 9. Januar 2002 (09.01.2002)

(84) Bestimmungsstaaten (regional): ARIPO-Patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
101 00 586.5 9. Januar 2001 (09.01.2001) DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US): RIBOPHARMA AG [DE/DE]; Universitätsstrasse 30, 95447 Bayreuth (DE).

(72) Erfinder; und
(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): KREUTZER, Roland [DE/DE]; Universitätsstrasse 30, 95447 Bayreuth (DE). LIMMER, Stefan [DE/DE]; Universitätsstrasse 30, 95447 Bayreuth (DE). VORNLOCHER, Hans-Peter [DE/DE]; Universitätsstrasse 30, 95447 Bayreuth (DE). HADWIGER, Philipp [DE/DE]; Universitätsstrasse 30, 95447 Bayreuth (DE). GEICK, Anke [DE/DE]; Universitätsstrasse 30, 95447 Bayreuth (DE). OCKER, Matthias [DE/DE]; Beethovenstr. 15, 91052 Erlangen (DE). HEROLD, Christoph [DE/DE]; Spardofer Str. 40, 91054 Erlangen (DE). SCHUPPAN, Detlef [DE/DE]; Baumzeit 2, 91088 Bubenreuth (DE).

Veröffentlicht:

— mit internationalem Recherchenbericht

(88) Veröffentlichungsdatum des internationalen
Recherchenberichts: 12. Juni 2003

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen
Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on
Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe
der PCT-Gazette verwiesen.

(54) Title: METHOD FOR INHIBITING THE EXPRESSION OF A TARGET GENE AND MEDICAMENT FOR TREATING A TUMOR DISEASE

(54) Bezeichnung: VERFAHREN ZUR HEMMUNG DER EXPRESSION EINES ZIELGENS UND MEDIKAMENT ZUR THE-
RAPIE EINER TUMORERKRANKUNG

(57) Abstract: The invention relates to a method for inhibiting an expression of at least one target gene that impedes or prevents the apoptosis of a tumor cell, whereby at least one double-stranded ribonucleic acid (dsRNA) is introduced into the tumor cell whose strand S1 has a region, which is complementary to the target gene at least in areas and which is comprised of fewer than 25 consecutive nucleotides.

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Hemmung einer die Apoptose einer Tumorzelle hemmenden oder verhindernden Expression mindestens eines Zielgens, wobei mindestens eine doppelsträngige Ribonukleinsäure (dsRNA) in die Tumorzelle eingeführt wird, deren einer Strang S1 einen zum Zielgen zumindest abschnittsweise komplementären aus weniger als 25 aufeinanderfolgenden Nukleotiden bestehenden Bereich aufweist.

WO 02/055692 A3

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/EP 02/00151

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	BASS BRENDA L: "Double-stranded RNA as a template for gene silencing" CELL, CELL PRESS, CAMBRIDGE, MA, US, vol. 101, no. 3, 28 April 2000 (2000-04-28), pages 235-238, XP002194756 ISSN: 0092-8674 figure 1	1-26
Y	ZAMORE PHILLIP D ET AL: "RNAi: Double-stranded RNA directs the ATP-dependent cleavage of mRNA at 21 to 23 nucleotide intervals" CELL, CELL PRESS, CAMBRIDGE, MA, US, vol. 101, no. 1, 31 March 2000 (2000-03-31), pages 25-33, XP002208683 ISSN: 0092-8674 the whole document	1-26
Y,P	AMBROS VICTOR: "Dicing up RNAs" SCIENCE, AMERICAN ASSOCIATION FOR THE ADVANCEMENT OF SCIENCE, US, vol. 293, no. 5531, 3 August 2001 (2001-08-03), pages 811-813, XP002183122 ISSN: 0036-8075 the whole document	1-26
Y,P	GAUTSCHI O., TSCHOPP S., OLINE R.A. ET AL: "Activity of a novel bcl-2/bcl-xL-bispecific antisense oligonucleotide against tumors of diverse histologic origins." J. NATL. CANCER INST., vol. 93, no. 6, 21 March 2001 (2001-03-21), pages 463-471, XP009003270 cited in the application the whole document	1-26
A	WO 94 01550 A (AGRAWAL SUDHIR ;HYBRIDON INC (US); TANG JIN YAN (US)) 20 January 1994 (1994-01-20)	

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen
PCT/EP 02/00151A. KLASIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
IPK 7 C12N15/11 A61K31/713 C12N15/88 A61P35/00

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierte Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)
IPK 7 C12N

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der Internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal, PAJ, MEDLINE, BIOSIS, EMBASE, CHEM ABS Data, SEQUENCE SEARCH

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
Y	WO 98 05770 A (ROTHBARTH KARSTEN ; JOSWIG GABY (DE); WERNER DIETER (DE); SCHUBERT) 12. Februar 1998 (1998-02-12) das ganze Dokument	1-26
Y	WO 99 32619 A (CARNEGIE INST OF WASHINGTON ; MONTGOMERY MARY K (US); FIRE ANDREW () 1. Juli 1999 (1999-07-01) das ganze Dokument	1-26
Y	WO 00 44914 A (FARRELL MICHAEL J ; LI YIN XIONG (US); KIRBY MARGARET L (US); MEDIC) 3. August 2000 (2000-08-03) das ganze Dokument	1-26
Y	WO 00 44895 A (KREUTZER ROLAND ; LIMMER STEPHAN (DE)) 3. August 2000 (2000-08-03) das ganze Dokument	1-26
	—/—	

 Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

* T Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldeatum oder dem Prioritätsatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

* A Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

* X Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erforderlicher Tätigkeit beruhend betrachtet werden

* E älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem Internationalen Anmeldeatum veröffentlicht worden ist

* Y Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erforderlicher Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

* L Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

* & Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

* O Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

* P Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldeatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsatum veröffentlicht worden ist

* Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

Absendedatum des Internationalen Recherchenberichts

8. Januar 2003

27/01/2003

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Armandola, E

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen
PCT/EP 02/00151

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument		Datum der Veröffentlichung		Mitglied(er) der Patentfamilie		Datum der Veröffentlichung
WO 9805770	A	12-02-1998		DE 19631919 A1		12-02-1998
				WO 9805770 A2		12-02-1998
				EP 0918853 A2		02-06-1999
WO 9932619	A	01-07-1999		AU 743798 B2		07-02-2002
				AU 1938099 A		12-07-1999
				CA 2311999 A1		01-07-1999
				EP 1042462 A1		11-10-2000
				JP 2002516062 T		04-06-2002
				WO 9932619 A1		01-07-1999
WO 0044914	A	03-08-2000		AU 2634800 A		18-08-2000
				EP 1147204 A1		24-10-2001
				WO 0044914 A1		03-08-2000
				US 2002114784 A1		22-08-2002
WO 0044895	A	03-08-2000		DE 19956568 A1		17-08-2000
				AT 222953 T		15-09-2002
				AU 3271300 A		18-08-2000
				WO 0044895 A1		03-08-2000
				DE 10080167 D2		28-02-2002
				DE 50000414 D1		02-10-2002
				EP 1144623 A1		17-10-2001
				EP 1214945 A2		19-06-2002
WO 9401550	A	20-01-1994		AT 171210 T		15-10-1998
				AU 4770093 A		31-01-1994
				CA 2139319 A1		20-01-1994
				CZ 9403332 A3		12-07-1995
				DE 69321122 D1		22-10-1998
				EP 0649467 A1		26-04-1995
				FI 946201 A		30-12-1994
				HU 69981 A2		28-09-1995
				JP 8501928 T		05-03-1996
				NO 945020 A		28-02-1995
				NZ 255028 A		24-03-1997
				PL 307025 A1		02-05-1995
				WO 9401550 A1		20-01-1994

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- BLACK BORDERS**
- IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- FADED TEXT OR DRAWING**
- BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- SKEWED/SLANTED IMAGES**
- COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- GRAY SCALE DOCUMENTS**
- LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.